ENGLISH

remel

CRYPTOCOCCUS ANTIGEN TEST KIT

INTENDED USE

Remel Cryptococcus Antigen Test Kit is a simple, qualitative or semi-quantitative, 5-minute test for detection of polysaccharide antigens associated with *Cryptococcus neoformans* infection. Serum or cerebrospinal fluid (CSF) may be used as specimens.

SUMMARY AND EXPLANATION

Cryptococcosis is a systemic infection caused by the yeast, *C. neoformans*.[1] The natural reservoirs for *C. neoformans* are soil and avian feces. Inhalation of yeast cells may lead to a lung infection and possibly disseminated disease. Patients often present with devastating debilitation, especially those with an immunosuppressive syndrome. Because *C. neoformans* has an unusual affinity for central nervous system tissue, rapid and early detection is essential.

In 1963, Bloomfield reported detection of cryptococcal polysaccharide (CPS) antigens in serum and CSF of patients with cryptococcosis.[2] In further testing, investigators reported false-positive reactions in the serum of patients with rheumatoid factor.[3,4] In 1983, Stockman and Roberts introduced an enzymatic method incorporating protease to eliminate interference factors (e.g., rheumatoid factor) in serum.[5] Such factors also include immune complexes, which have been shown to mask CPS antigen and prevent its recognition by sensitized latex particles. Since then, latex agglutination has been found to be a specific and sensitive method for rapid detection of CPS antigen in serum and CSF.

PRINCIPLE

Cryptococcus Antigen Test Kit incorporates the use of latex particles sensitized with murine (mouse) IgM monoclonal antibodies. CPS antigen in patient serum or CSF interacts with sensitized latex particles producing visible agglutination. The use of IgM monoclonal antibodies and treatment of serum with protease reduce the potential for false-positive reactions, eliminating the need to perform a companion control latex test to verify the specificity of results.[6-7]

REAGENTS AND MATERIALS SUPPLIED

1. **Test Latex:** Latex particles sensitized with IgM anti-CPS monoclonal antibody in a buffer and preserved in 0.01% thimerosol (1 x 2.5 ml)
2. **Negative Control:** CPS antigen-negative human serum in a buffer preserved in 0.1% sodium azide (1 x 0.8 ml)
3. **High Positive Control:** CPS antigen preserved in 0.1% sodium azide (1 x 0.8 ml)
4. **Low Positive Control:** CPS antigen preserved in 0.1% sodium azide (1 x 0.8 ml)
5. **Protease:** 1 enzyme tablet in a vial (reconstitutes to 3 ml)
6. **Specimen Diluent:** 10 x NaCl/Glycine solution preserved in 1.0% sodium azide (1 x 10 ml - dilute to 1 x)
7. **Reaction Cards** (12 cards x 6 circles each)
8. **Dispensing Pipettes** (50)
9. **Instructions for Use** (IFU)

PRECAUTIONS

This product is for *In Vitro* diagnostic use and should be used by properly trained individuals. Precautions should be taken against the dangers of microbiological hazards by properly sterilizing specimens, containers, and test materials after use. Directions should be read and followed carefully.

Safety Precautions:

1. Potential Biohazardous Material: The human serum used to manufacture the Negative Control has been shown to be nonreactive for the presence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibodies to HIV and HCV using FDA-licensed test methods. Because no test can ensure the absence of every infectious agent, all human specimens should be considered potentially infectious and handled accordingly.[8]
2. The Specimen Diluent contains 1.0% sodium azide which is toxic if swallowed and harmful by inhalation or skin contact; may be toxic to the aquatic environment and cause long-term effects. Upon disposal of reagents into a sink, flush with large amounts of water to prevent azide buildup.
3. Refer to the Material Safety Data Sheet for detailed information on reagent chemicals.
4. Do not dilute the Test Latex or Controls.
5. Do not interchange reagents between kits of different lots.
6. Specimens should not be frozen and thawed more than once. The use of a self-defrosting freezer for storage of specimens is not recommended.

STORAGE

Store product in its original container at 2-8°C until used. Allow components to equilibrate to room temperature before use. Do not freeze or overheat.

PRODUCT DETERIORATION

This product should not be used if (1) the appearance of the reagents has changed, (2) the expiration date has passed, or (3) there are other signs of deterioration. The Test Latex should appear milky. If agglutination in the latex is apparent and is not dispersed by rapidly inverting the bottle several times, do not use the reagent. The Positive and Negative Controls should be clear solutions.

SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, AND TRANSPORT

Specimens should be collected and handled following recommended guidelines.[9]

Remove serum from fully clotted whole blood and transfer to a clean, labeled tube. Specimens that are grossly hemolyzed, cloudy, or contain flocculant material (serum or CSF) should be centrifuged before testing. If centrifugation does not improve the quality of the specimen or the volume is inadequate for testing, collect a second sample.

Store specimens in sealed, labeled tubes at 2-8°C for up to one week or at ≤-20°C for longer periods of time. Specimens that have been stored should be mixed thoroughly and centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes before testing. Test specimens immediately after processing.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

(1) Clinical rotator capable of 100 to 110 rpm, (2) Graduated pipettes or a micropipettor for serial dilution of specimens, (3) Test tubes, 12 x 75 mm, (4) Timer, (5) Marking pen, (6) Boiling water bath, (7) Volumetric flask or graduated cylinder, (8) Demineralized water, (9) Bottle with screw cap for working strength 1x prepared Specimen Diluent, (10) Vortex mixer, centrifuge, high-intensity incandescent lamp (optional).

REAGENT PREPARATION AND STORAGE

Specimen Diluent:

The Specimen Diluent is provided at 10x concentration. Prepare a working-strength dilution (1x concentration) in a separate bottle by combining the entire contents of the 10x Specimen Diluent bottle with 90 ml of demineralized water. Mix the working-strength Specimen Diluent and label with the expiration date on the 10x Specimen Diluent. Use as needed or store at 2-8°C.

Protease:

Prepare the protease solution by adding 3 ml of working-strength Specimen Diluent to the vial containing the enzyme tablet. Allow 30 minutes for complete reconstitution, swirling the vial at least twice during this time. Label the vial with the date of reconstitution. Protease solution can be stored at 2-8°C for one month from the date of reconstitution. Alternatively, aliquot the solution into appropriate capped and labeled tubes and store at ≤-20°C until the expiration date of the kit.

PROCEDURE

Specimen Preparation:

CSF

1. Heat in a boiling water bath (100°C) for 5 minutes.
2. Allow the specimen to cool to room temperature.
3. Vortex the contents of the tube before testing.

Serum

1. Dispense 100 to 200 µl of serum in a tube and add an equal volume of protease solution. Cap and seal the tube. Mix by vortexing.
2. Place the tube in a boiling water bath (100°C) for 10 minutes.
3. Allow the specimen to cool to room temperature and gently mix before testing.

Note: If flocculation is observed before and/or after protease treatment, centrifuge the specimen at 3000 rpm for 10 minutes at room temperature. Using a dispensing pipette or a micropipettor, carefully decant the supernatant (50 µl) to avoid aspirating the pellet.

Qualitative Testing:

Note: The Test Latex and Controls (High Positive, Low Positive, and Negative) are supplied at working strength in dropper bottles. To dispense, hold the bottle in a vertical position and squeeze, delivering one drop into a test circle of a reaction card.

1. Resuspend the Test Latex by rapidly inverting the bottle several times. Dispense one drop of the Test Latex into a separate test circle for each specimen and Control to be tested.
2. Dispense one drop of each well-mixed Control into a separate, test circle containing Test Latex. Use the paddle end of a separate pipette (provided) to thoroughly mix each Control and Test Latex. Discard each pipette after this step.
3. Using the provided pipettes, dispense one drop of each pretreated specimen (approximately 50 µl) into a test circle containing Test Latex. With the paddle end of the pipette, thoroughly mix the specimen and Test Latex, spreading over the entire area of the circle. Discard the pipette after this step.
4. Place the reaction card on a clinical rotator and rotate at 100 to 110 rpm for 5 minutes.
5. Immediately following the 5-minute rotation, tilt the slide to obtain a flow pattern and carefully examine each circle for agglutination. Compare the reaction of each test sample to the Negative Control.

Note: A high-intensity, incandescent lamp may be used to aid in interpretation of results.

Semi-Quantitative Testing of Positive Specimens:

1. Add 0.1 ml of working-strength Specimen Diluent to each of 8 tubes which have been labeled 1 to 8.
2. Add 0.1 ml of heat-treated CSF or protease-treated serum (already at 1:2) to tube 1. Using a clean pipette, mix the contents of tube 1 and transfer 0.1 ml to tube 2. Discard the pipette; do not mix the contents of tube 2 with the pipette.

3. With a clean pipette, thoroughly mix the contents of tube 2 and transfer 0.1 ml to tube 3. Discard the pipette; do not mix the contents of tube 3 with the pipette.
4. Proceed, producing serial, doubling dilutions of the specimen through tube 8. The prepared serum dilutions are 1:4 to 1:512 for tubes 1 to 8, respectively. For CSF, the serum dilutions are 1:2 to 1:256. Tube 8 can be diluted further if an endpoint is not reached.
5. Test each specimen dilution following the protocol described under Qualitative Testing.

INTERPRETATION

Qualitative Test:

Positive Result - Any agglutination or clumping and clearing of the Test Latex immediately after the 5-minute rotation step

Negative Result - No agglutination, clumping, or clearing of the Test Latex immediately after the 5-minute rotation step

Note: The Test Latex suspension should appear milky and faint traces of granularity may be detectable.

Semi-Quantitative Test:

The titer is the reciprocal of the last dilution which produces a positive result (agglutination).

EXPECTED VALUES

A positive result indicates the presence of CPS antigen in the patient specimen. A negative result indicates the absence of detectable levels of CPS antigen in the specimen.

AIDS patients may retain CPS antigen for long periods of time, which may not be due to active multiplication of the yeast.[10-12] Testing of subsequent specimens may be useful in determining disease prognosis. Serum antigen titers ranging from 1:2 to 1:32,678 have been reported in patients with active HIV infection.[13] The magnitude of such titers does not appear to correlate with the severity of infection but may be useful in diagnosing neurological cryptococcal infection. Titers >1:10,000 in AIDS patients have been associated with 100% mortality.

QUALITY CONTROL

All lot numbers of Cryptococcus Antigen Test Kit have been tested and found to be acceptable. Quality control testing should be performed in accordance with established laboratory quality control procedures. If aberrant quality control results are noted, patient results should not be reported.

Quality Control Procedure

The High Positive, Low Positive, and Negative Controls should each be tested with every test run of patient specimens as described under Qualitative Testing. The High Positive and Low Positive Controls must agglutinate the Test Latex differentially.

- The High Positive Control must produce strong agglutination.
- The Low Positive Control must produce weaker but clearly visible agglutination.
- The Negative Control must not produce any agglutination, although trace granularity is acceptable.

LIMITATIONS

1. False-positive reactions have been reported with syneresis fluid (agar surface condensation from culture plates) and with specimens containing *Trichosporon beigelii.*[14,15]
2. Prozone occurs when concentrations of CPS antigens are very high causing what appears to be a negative result.[13] CPS antigen binds the murine antibody and covers most of the binding sites, preventing agglutination of the latex. If patient symptomology is reported to be consistent with cryptococcosis, dilute the CSF or protease-treated serum specimen 1:10 and repeat testing.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS[16,17]

Sixty randomly selected, known-nonreactive, serum specimens were negative (nonreactive) when tested with Cryptococcus Antigen Test Kit. Among these sera were the Centers for Disease Control and Prevention RF reference (1000 IU/ml) samples which included many connective tissue- and rheumatoid factor-positive sera, along with rubella and other nonspecific antibodies. These results demonstrate Cryptococcus Antigen Test Kit provides optimum sensitivity without the use of control latex to verify specificity.

An independent study was conducted at a clinical laboratory associated with a large hospital. Serum and CSF specimens (595) were tested with Cryptococcus Antigen Test Kit and another commercially available latex test. The results indicated the sensitivity and specificity of Cryptococcus Antigen Test Kit is 100% and the reactions were judged easier to interpret.

		Cryptococcus Antigen Test Kit	
		+	–
Other Latex Test	+	68	2*
	–	0	525

***Note:** Two specimens were negative with Cryptococcus Antigen Test Kit and positive (titer of 1:2) with the other latex test; both specimens were negative by culture.

Reproducibility studies were conducted using Cryptococcus Antigen Test Kit and another commercially available latex test. The majority (96%) of titers obtained with both tests were within 1 tube dilution of each other

BIBLIOGRAPHY

1. Patterson, T.F. and V.T. Andriole. 1989. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8:457-465.
2. Bloomfield, N., M.A. Gordon, and D.F. Elmendorff, Jr. 1963. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 114:64-67.
3. Kaufman, L. and S. Blumer. 1977. Proc. Int. Conf. Mycoses., Pan Am. Health Org. 356:176-182.
4. Asznowicz, R., H. Newton-John, and J. Kaldor. 1979. Med. J. Aust. 1:347-349.
5. Stockman, L. and G.D. Roberts. 1983. J. Clin. Microbiol. 17:945-947.
6. Gray, L.D. and G.D. Roberts. 1988. J. Clin. Microbiol. 26:2450-2451.
7. Hamilton, J.R., A. Nobel, D.W. Denning, and D.A. Stevens. 1991. J. Clin. Microbiol. 29:333-339.
8. Chosewood, L.C. and D.E. Wilson. 2007. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. U.S. Dept. of H.H.S., CDC and National Institutes of Health, Washington, D.C.
9. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M.A. Pfaller. 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
10. Kovacs, J.A., A.A. Kovacs, M. Polis, W.C. Wright, V.J. Gill, C.U Tuazon, E.P Gelmann, H.C. Lane, R. Longfield, G. Overturf, A.M. Macher, A.S. Fauci, J.E. Parrillo, J.E. Bennett, and H. Masur. 1985. Ann. Int. Med. 103:533-538.
11. Eng, R.H., E. Bishburg, S.M Smith, and R. Kapila. 1986. Am. J. Med. 81:19-23.
12. Chuck, S.L. and M.A. Sande. 1989. N. Engl. J. Med. 321:794-798.
13. Dimech, W.J. 1991. Aust. J. Med. Lab. Sci. 12:13-21.
14. Boom, W.H., D.J. Piper, K.L. Ruoff, and M.J. Ferraro. 1985. J. Clin. Microbiol.22:856-857.
15. Melcher, G.P., K.D. Reed, M.G. Rinaldi, J.W. Lee, P.A. Pizzo, and T.J. Walsh. 1991. J. Clin. Microbiol. 29:192-196.
16. Howell, D., D. Orkiszewski, and P. Gilligan. 1993. Abstract C-160. Abstracts of the 93rd Gen. Mtg. of the ASM. ASM, Washington, D.C.
17. Kiska, D.L., D.R. Orkiszewski, D. Howell, and P.H. Gilligan. 1994. J. Clin. Microbiol. 32:2309-2311.

PACKAGING

REF R30851501, Cryptococcus Antigen Test Kit..... 50 Tests/Kit

Symbol Legend

REF	Catalog Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
LAB	For Laboratory Use
	Consult Instructions for Use (IFU)
	Temperature Limitation (Storage Temp.)
LOT	Batch Code (Lot Number)
	Use By (Expiration Date)
EC REP	European Authorized Representative

CE

IFU 30851501, Revised December 2, 2009 Printed in U.S.A

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
General Information: (800) 255-6730 Website: www.remel.com Email: remel@remel.com
Local/International Phone: (913) 888-0939 International Fax: (913) 895-4128

remel

CRYPTOCOCCUS ANTIGEN TEST KIT

VERWENDUNGSZWECK

Remel Cryptococcus Antigen-Testkit ist ein einfacher, qualitativer oder semi-quantitativer 5-Minuten-Test zum Nachweis von Polysaccharid-Antigenen, die mit *Cryptococcus-neoformans*-Infektionen assoziiert sind. Serum oder Liquor cerebrospinalis (CSF) können als Proben verwendet werden.

ZUSAMMENFASSENDE ERKLÄRUNG

Bei Kryptokokkose handelt es sich um eine systemische Infektion, die durch den Hefepilz *C. neoformans* hervorgerufen wird.[1] *C. neoformans* kommt in der Natur im Boden und in den Fäkalien von Vögeln vor. Das Einatmen von Hefezellen kann zu einer Infektion der Lungen und möglicherweise zu einer disseminierten Erkrankung führen. Die Patienten zeigen häufig eine sehr starke Abwehrschwäche, insbesondere diejenigen, die ein immuno-suppressives Syndrom aufweisen. Da *C. neoformans* eine außergewöhnliche Affinität zum Gewebe des zentralen Nervensystems aufweist, ist eine schnelle und frühzeitige Erkennung von wesentlicher Bedeutung.

Im Jahre 1963 gab Bloomfield den Nachweis von kryptokokkalen Polysaccharid- (CPS-) Antigenen in Serum und Liquor von Patienten mit Kryptokokkose bekannt.[2] Bei weiteren Tests berichteten Forscher von falsch-positiven Reaktionen im Serum von Patienten mit Rheumafaktor.[3,4] 1983 setzten Stockman und Roberts eine enzymatische Methode ein, die Protease zur Vermeidung von Störfaktoren (z.B. dem Rheumafaktor) in Serum einschloss.[5] Solche Faktoren umfassen darüber hinaus Immunkomplexe, von denen nachgewiesen wurde, dass sie das CPS-Antigen maskieren, und seine Erkennung durch sensibilisierte Latexpartikel verhindern. Seit damals gilt die Latexagglutination als eine spezifische und sensitive Methode zum schnellen Nachweis des CPS-Antigens in Serum und Liquor.

TESTPRINZIP

Das Cryptococcus Antigen-Testkit umfasst die Verwendung von mit monoklonalen Maus-IgM-Antikörpern sensibilisierten Latexpartikeln. Das CPS-Antigen im Patientenserum oder Liquor reagiert mit dem sensibilisierten Latexpartikeln und erzeugt hierbei eine sichtbare Agglutination. Die Verwendung von monoklonalen IgM-Antikörpern und die Behandlung von Serum mit Protease verringert das Potenzial falsch-positiver Reaktionen, und macht somit die Durchführung eines Latextests als Begleitkontrolle zur Verifizierung der Spezifität der Ergebnisse überflüssig.[6-7]

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

1. **Testlatex**: Mit monoklonalen IgM-anti-CPS-Antikörpern sensibilisierte Latexpartikel in einem Puffer und in 0,01 % Thimerosol (1 x 2,5 ml) konserviert
2. **Negative Kontrolle**: Normales Humanserum in einem Puffer in 0,1 % Natriumazid (1 x 0,8 ml) konserviert
3. **Stark positive Kontrolle**: *C. neoformans*-CPS-Antigen in 0,1 % Natriumazid (1 x 0,8 ml) konserviert
4. **Schwach positive Kontrolle**: *C. neoformans*-CPS-Antigen in 0,1 % Natriumazid (1 x 0,8 ml) konserviert
5. **Protease**: 1 Enzym-Tablette in einem Fläschchen (rekonstituiert zu 3 ml)
6. **Probenverdünnung**: 10x NaCl-/Glyzinlösung in 1,0 % Natriumazid (1 x 10 ml-verdünnt auf 1x) konserviert
7. **Reaktionskarten** (12 Karten x jeweils 6 Kreise)
8. **Dosierpipetten** (50)
9. **Gebrauchsanweisung** (IFU)

VORSICHTSMASSNAHMEN

Dieses Produkt ist für die Verwendung in der In-vitro-Diagnostik bestimmt und sollte nur von entsprechend geschulten Personen verwendet werden. Es sind Vorsichtsmaßnahmen gegen die von mikrobiologischem Material ausgehenden Gefahren zu ergreifen, indem Proben, Behälter und Testmaterial nach Gebrauch ordnungsgemäß sterilisiert werden. Die Gebrauchsanweisung muss sorgfältig gelesen und genau befolgt werden.

Sicherheitsmaßnahmen:

1. Potentiell biogefährliches Material: Es wurde nachgewiesen, dass das Humanserum, das zur Herstellung der Negativkontrolle verwendet wird, für die Anwesenheit des Hepatitis-B-Oberflächenantigens (HBsAg) und von Antikörpern für HIV und HCV mithilfe von FDA-lizenzierten Testmethoden nicht reaktiv ist. Da kein Test die Abwesenheit jeglicher infektiösen Substanz zuverlässig nachweisen kann, sollten sämtliche Humanproben als potenziell infektiös betrachtet und entsprechend behandelt werden.[8]
2. Die Probenverdünnung enthält 1,0 % Natriumazid, das beim Verschlucken giftig ist und beim Einatmen oder bei Hautkontakt gesundheitsschädigend sein kann; es kann Gewässer vergiften und langfristige schädliche Auswirkungen haben. Nach der Entsorgung der Reagenzien in einen Ausguss zur Vermeidung einer Azidansammlung mit großen Mengen Wasser spülen.
3. Für genaue Angaben zur chemischen Zusammensetzung der Reagenzien siehe Datenblatt für Materialsicherheit.
4. Den Testlatex oder die Kontrollen nicht verdünnen.
5. Die Reagenzien von Kits verschiedener Chargen dürfen nicht ausgetauscht werden.
6. Proben sollten nicht wiederholt aufgetaut werden. Die Verwendung selbstabtauender Gefrierschränke für die Aufbewahrung von Proben wird nicht empfohlen.

LAGERUNG

Das Produkt sollte in seinem Originalbehälter im Dunkeln bei 2-8°C bis zum Gebrauch aufbewahrt werden. Die Komponenten vor der Verwendung auf Raumtemperatur bringen. Nicht einfrieren oder überhitzen.

BEEINTRÄCHTIGUNG DER PRODUKTQUALITÄT

Dieses Produkt sollte bei (1) einer Farbänderung der Reagenzien, (2) beim Überschreiten des Verfallsdatums und (3) beim Auftreten anderer Anzeichen eines Qualitätsverlusts nicht verwendet werden. Der Testlatex sollte milchig erscheinen. Sofern die Agglutination im Latex eingetreten ist und nicht durch ein schnelles, mehrmaliges Umdrehen der Flasche verteilt werden kann, das Reagenz nicht verwenden. Die positiven und negativen Kontrollen sollten klare Lösungen sein.

PROBENENTNAHME, LAGERUNG UND TRANSPORT

Die Probenentnahme und -handhabung sollte unter Berücksichtigung der empfohlenen Richtlinien durchgeführt werden.[9]

Das Serum aus vollständig geronnenem Vollblut in ein sauberes, etikettiertes Fläschchen geben. Proben, die grob hämolysiert oder trüb sind, oder Flockungsmaterial (Serum oder Liquor) enthalten, sollten vor dem Test zentrifugiert werden. Sofern die Zentrifugierung die Qualität der Probe nicht verbessert, oder die Menge für den Test nicht ausreicht, eine zweite Probe entnehmen.

Die Proben in einem verschlossenen, etikettierten Röhrchen bei 2-8°C bis zu einer Woche oder bei ≤–20°C für einen längeren Zeitraum lagern. Proben, die gelagert wurden, sollten vor dem Test sorgfältig gemischt werden und bei 3000 U/min. 10 Minuten lang zentrifugiert werden. Die Proben unmittelbar nach der Bearbeitung testen.

BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)

(1) Klinischer Rotor mit einer Leistung von 100 bis 110 U/min., (2) Pipetten mit Markierung oder ein Mikropipettor zur seriellen Verdünnung von Proben, (3) Teströhrchen, 12 x 75 mm, (4) Labortimer, (5) Markierstift, (6) Wasserbad mit kochendem Wasser, (7) Messkolben oder -zylinder mit Markierung, (8) demineralisiertes Wasser, (9) Flasche mit Schraubverschluss für eine Arbeitskonzentration von 1x präparierter Probenverdünnung, (10) Vortex-Mischer, Zentrifuge, Hochintensitäts-Glühlampe (optional).

REAGENZPRÄPARATION UND -LAGERUNG

Probenverdünnung:

Die Probenverdünnung wird in einer 10-fachen Konzentration geliefert. Eine Arbeitskonzentrationslösung (1-fache Verdünnung) in einer separaten Flasche durch Verbindung des gesamten Inhalts der Flasche mit der 10-fachen Probenverdünnung mit 90ml demineralisiertem Wasser vorbereiten. Die Probenverdünnung in Arbeitskonzentration mischen und mit dem Verfallsdatum auf der 10-fachen Probenverdünnung versehen. Nach Bedarf verwenden oder bei 2-8°C lagern.

Protease:

Die Protease-Lösung unter Hinzugabe von 3 ml Probenverdünnung in Arbeits-konzentration in das Fläschchen mit der Enzym-Tablette vorbereiten. 30 Minuten bis zur vollständigen Rekonstitution abwarten, während dieser Zeit das Fläschchen mindestens zweimal schwenken. Das Fläschchen mit dem Datum der Rekonstitution versehen. Die Protease-Lösung kann vom Tag der Rekonstitution an einen Monat bei 2-8°C gelagert werden. Alternativ können auch Teilmengen der Lösung in entsprechend verschlossene und etikettierte Röhrchen gegeben und bei ≤-20°C bis zum Verfallsdatum des Kits gelagert werden.

VERFAHREN

Vorbereitung der Probe:

Liquor

1. In einem Wasserbad mit kochendem Wasser (100°C) 5 Minuten lang erwärmen.
2. Die Proben auf Raumtemperatur abkühlen lassen.
3. Den Inhalt des Röhrchens vor dem Test mit einem Vortex-Mischer mischen.

Serum

1. 100 bis 200 µl Serum in ein Röhrchen pipettieren und die gleiche Menge Protease-Lösung hinzugeben. Das Röhrchen verschließen und versiegeln. Mit einem Vortex-Mischer mischen.
2. Das Röhrchen in einem Wasserbad mit kochendem Wasser (100°C) 10 Minuten lang erwärmen.
3. Die Probe auf Raumtemperatur abkühlen lassen und vor dem Test sorgfältig mischen.

Hinweis: Sofern eine Flockung vor und/oder nach der Protease-Behandlung beobachtet wird, die Probe bei 3000 U/min. 10 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren. Mithilfe einer Dosierpipette oder eines Mikropipettors den Überstand (50 µl) vorsichtig abgießen, um das Ansaugen des Pellets zu vermeiden.

Qualitativer Test:

Hinweis: Der Testlatex und die Kontrollen (stark positiv, schwach positiv und negativ) werden in Arbeitskonzentration in Tropfflaschen geliefert. Zur Dosierung die Flaschen in einer senkrechten Position halten und drücken, und so einen Tropfen auf einen Testkreis einer Reaktionskarte aufbringen.

1. Den Testlatex durch mehrfaches, schnelles Umdrehen der Flasche wieder suspendieren. Einen Tropfen des Testlatex auf einen separaten Testkreis für jede zu testende Probe und Kontrolle pipettieren.
2. Einen Tropfen jeder gut gemischten Kontrolle in einen separaten Testkreis mit Testlatex pipettieren. Das Paddelende jeder einzelnen Pipette (im

Lieferumfang enthalten) zum sorgfältigen Mischen jeder Kontrolle mit jedem Textlatex verwenden. Jede Pipette nach diesem Schritt entsorgen.
3. Die mitgelieferten Pipetten zur Dosierung eines Tropfens jeder vorbehandelten Probe (ca. 50 µl) in einen Testkreis mit Testlatex verwenden. Mithilfe des Paddelendes der Pipette die Probe mit dem Testlatex sorgfältig mischen, indem sie über den gesamten Bereich des Kreises verteilt wird. Die Pipette nach diesem Schritt entsorgen.
4. Die Reaktionskarte auf den klinischen Rotor setzen und bei 100 bis 110 U/min. 5 Minuten lang rotieren.
5. Nach der 5-minütigen Rotation das Plättchen umgehend kippen, um ein Fließmuster zu erhalten und jeden Kreis sorgfältig auf Agglutination untersuchen. Die Reaktion jeder Testprobe mit der Negativkontrolle vergleichen.

Hinweis: Eine Hochintensitäts-Glühlampe kann bei der Interpretation der Ergebnisse unterstützend eingesetzt werden.

Semi-quantitative Testverfahren positiver Proben:
1. 0,1 ml Probenverdünnung in Arbeitskonzentration jeder der 8 Röhrchen hinzugeben, die mit 1 bis 8 etikettiert wurden.
2. 0,1 ml wärmebehandelten Liquor oder Protease-behandeltes Serum (bereits in der Verdünnung 1:2) in Röhrchen 1 geben. Mithilfe einer sauberen Pipette den Inhalt von Röhrchen 1 mischen und 0,1 ml in Röhrchen 2 geben. Die Pipette entsorgen; den Inhalt von Röhrchen 2 nicht mit der Pipette mischen.
3. Mit einer sauberen Pipette den Inhalt von Röhrchen 2 sorgfältig mischen und 0,1 ml in Röhrchen 3 geben. Die Pipette entsorgen; den Inhalt von Röhrchen 3 nicht mit der Pipette mischen.
4. Fortfahren, indem serielle Verdoppelungslösungen der Probe durch Röhrchen 8 hergestellt werden. Die präparierten Serumverdünnungen sind 1:4 bis 1:512 jeweils für Röhrchen 1 bis 8. Die Serumverdünnungen für Liquor sind 1:2 bis 1:256. Röhrchen 8 kann weiter verdünnt werden, wenn der Endpunkt nicht erreicht ist.
5. Jede Probenverdünnung entsprechend dem unter „Qualitativer Test" beschriebenen Protokoll testen.

INTERPRETATION

Qualitativer Test:

Positives Ergebnis: Jede Agglutination, Verklumpung oder Ausfällung des Testlatex umgehend nach der 5-minütigen Rotation

Negatives Ergebnis: Keine Agglutination oder Verklumpung und Ausfällung des Testlatex umgehend nach der 5-minütigen Rotation

Hinweis: Die Testlatexsuspension sollte milchig erscheinen und schwache Spuren von Körnung sollten erkennbar sein.

Semi-quantitativer Test:
Der Titer ist reziprok zur letzten Verdünnung, die ein positives Ergebnis (Agglutination) erzeugt.

ERWARTETE WERTE

Ein positives Ergebnis weist auf das Vorhandensein des CPS-Antigens in der Patientenprobe hin. Ein negatives Ergebnis weist auf die Abwesenheit von nachweisbaren Konzentrationen des CPS-Antigens in der Probe hin.

AIDS-Patienten können über längere Zeiträume hinweg ein CPS-Antigen aufweisen, was nicht auf eine aktive Vermehrung der Hefezellen zurückzuführen ist.[10-12] Tests von Folgeproben können zur Bestimmung der Krankheitsprognose nützlich sein. Serumantigen-Titer, die in einem Bereich von 1:2 bis 1:32.678 liegen, wurden bei Patienten mit einer aktiven HIV-Infektion nachgewiesen.[13] Die Größe solcher Titer scheint nicht in Korrelation zur Schwere der Infektion zu stehen, aber kann bei der Diagnose einer neurologischen Kryptokokkeninfektion nützlich sein. Titer von >1:10.000 bei AIDS-Patienten wurden mit einer Mortalität von 100% in Verbindung gebracht.

QUALITÄTSKONTROLLE

Sämtliche Chargennummern des Cryptococcus Antigen-Testkit wurden getestet und für tauglich befunden. Die im Rahmen der Qualitätssicherung durchgeführten Tests müssen die Anforderungen anerkannter Qualitätssicherungsverfahren für Labore erfüllen. Treten im Rahmen der Qualitätskontrolle abweichende Ergebnisse auf, dürfen die Patientenergebnisse nicht verwendet werden.

Qualitätskontrollverfahren
Die stark positiven, schwach positiven und negativen Kontrollen sollten jeweils mit jedem Durchlauf von Patientenproben wie unter „Qualitativer Test" beschrieben getestet werden. Die stark positiven und schwach positiven Kontrollen müssen das Testlatex unterschiedlich agglutinieren.

- Die stark positive Kontrolle muss eine starke Agglutination erzeugen.
- Die schwach positive Kontrolle muss eine schwächere, aber deutlich sichtbare Agglutination erzeugen.
- Die negative Kontrolle darf keine Agglutination erzeugen, obwohl eine Spur Körnung akzeptabel ist.

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Falsch-positive Reaktionen wurden bei Synerese-Flüssigkeit (Agar-Oberflächenkondensation von Kulturplättchen) und bei Proben mit *Trichosporon beigelii* nachgewiesen.[14,15]
2. Ein Prozone tritt auf, wenn die Konzentrationen der CPS-Antigene sehr hoch sind, und anscheinend zu einem negativen Ergebnis führen.[13] Das CPS-Antigen bindet den murinen Antikörper, bedeckt die meisten Bindungspositionen und verhindert so eine Agglutination des Latex. Sofern die Symptomologie des Patienten als mit Kryptokokkose übereinstimmend berichtet wird, die Liquorprobe oder die Protease-behandelte Serumprobe im Verhältnis 1:10 verdünnen und den Test wiederholen.

LEISTUNGSMERKMALE[16,17]

Sechzig zufällig ausgewählte, bekannt nicht-reaktive Serumproben waren negativ (nicht-reaktiv), als sie mit dem Cryptococcus Antigen-Testkit getestet wurden. Zwischen diesen Sera befanden sich RF-Referenzproben der Centers for Disease Control and Prevention (1000 IU/ml), die viele Bindegewebe- und Rheumafaktor-positive Sera zusammen mit Rubella- und anderen nichtspezifischen Antikörpern umfassten. Diese Ergebnisse belegen, dass das Cryptococcus-Antigen-Testkit höchste Sensitivität ohne die Verwendung eines Kontrolllatex zur Verifizierung der Spezifität bietet.

Eine unabhängige Studie wurde in einem an ein großes Krankenhaus angeschlossenen Kliniklabor durchgeführt. Serum- und Liquor-Proben (595) wurden mit dem Cryptococcus-Antigen-Testkit und einem anderen im Handel erhältlichen Latextest getestet. Die Ergebnisse zeigten, dass die Sensitivität und Spezifität des Cryptococcus Antigen-Testkits 100% ist, und die Reaktionen wurden als einfacher zu beurteilen eingestuft.

		Cryptococcus Antigen-Testkit	
		+	–
Anderer Latextest	+	68	2*
	–	0	525

***Hinweis**: Zwei Proben reagierten mit dem Cryptococcus Antigen-Testkit negativ und mit dem anderen Latextest (Titer von 1:2) positiv. Beide Proben reagierten durch eine Kultur negativ.

Wiederholbarkeitsstudien wurden mithilfe des Cryptococcus Antigen-Testkits und einem anderen im Handel erhältlichen Latextest durchgeführt. Die Mehrzahl (96%) der Titer, die mit beiden Tests erhalten wurden, lagen im Bereich von 1 Röhrchenverdünnung voneinander.

LITERATURANGABEN

1. Patterson, T.F. and V.T. Andriole. 1989. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8:457-465.
2. Bloomfield, N., M.A. Gordon, and D.F. Elmendorff, Jr. 1963. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 114:64-67.
3. Kaufman, L. and S. Blumer. 1977. Proc. Int. Conf. Mycoses., Pan Am. Health Org. 356:176-182.
4. Asznowicz, R., H. Newton-John, and J. Kaldor. 1979. Med. J. Aust. 1:347-349.
5. Stockman, L. and G.D. Roberts. 1983. J. Clin. Microbiol. 17:945-947.
6. Gray, L.D. and G.D. Roberts. 1988. J. Clin. Microbiol. 26:2450-2451.
7. Hamilton, J.R., A. Nobel, D.W. Denning, and D.A. Stevens. 1991. J. Clin. Microbiol. 29:333-339.
8. Chosewood, L.C. and D.E. Wilson. 2007. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. U.S. Dept. of H.H.S., CDC and National Institutes of Health, Washington, D.C.
9. Murray P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller. 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
10. Kovacs, J.A., A.A. Kovacs, M. Polis, W.C. Wright, V.J. Gill, C.U Tuazon, E.P Gelmann, H.C. Lane, R. Longfield, G. Overturf, A.M. Macher, A.S. Fauci, J.E. Parrillo, J.E. Bennett, and H. Masur. 1985. Ann. Int. Med. 103:533-538.
11. Eng, R.H., E. Bishburg, S.M Smith, and R. Kapila. 1986. Am. J. Med. 81:19-23.
12. Chuck, S.L. and M.A. Sande. 1989. N. Engl. J. Med. 321:794-798.
13. Dimech, W.J. 1991. Aust. J. Med. Lab. Sci. 12:13-21.
14. Boom, W.H., D.J. Piper, K.L. Ruoff, and M.J. Ferraro. 1985. J. Clin. Microbiol.22:856-857.
15. Melcher, G.P., K.D. Reed, M.G. Rinaldi, J.W. Lee, P.A. Pizzo, and T.J. Walsh. 1991. J. Clin. Microbiol. 29:192-196.
16. Howell, D., D. Orkiszewski, and P. Gilligan. 1993. Abstract C-160. Abstracts of the 93rd Gen. Mtg. of the ASM. ASM, Washington, D.C.
17. Kiska, D.L., D.R. Orkiszewski, D. Howell, and P.H. Gilligan. 1994. J. Clin. Microbiol. 32:2309-2311.

PACKUNGSGRÖSSE

REF R30851501, Cryptococcus Antigen Test Kit..... 50 Tests/Kit

Symbollegende

REF	Katalog-Nummer
IVD	Medizinprodukt zur In-vitro-Diagnostik
LAB	Für den Laboreinsatz
	Gebrauchsanweisung beachten
	Temperaturbereich (Lagerungstemperatur)
LOT	Chargenbezeichnung (Chargennummer)
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
EC REP	Autorisierte Vertretung für EU-Länder

CE

IFU 30851501, Überarbeitete Fassung vom 2009-12-02 Printed in USA

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
Allgemeine Auskünfte: (800) 255-6730 Website: www.remel.com E-Mail: remel@remel.com
Telefon lokal/international: (913) 888-0939 Fax international: (913) 895-4128

remel

CRYPTOCOCCUS ANTIGEN TEST KIT

UTILISATION PRÉVUE

Le kit de test antigénique Cryptococcus de Remel est un simple test de 5 minutes, qualitatif ou semi-quantitatif, destiné à détecter des antigènes polysaccharidiques associées à une infection par *Cryptococcus neoformans*. Du sérum ou du liquide céphalo-rachidien (LCR) peuvent être utilisés comme échantillons.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La cryptococcose est une infection systémique causée par la levure *C. neoformans*.[1] Les réservoirs naturels du *C. neoformans* sont le sol et les déjections aviaires. L'inhalation des cellules de levure peut mener à une infection pulmonaire et à une dissémination potentielle de la maladie. Les patients présentent fréquemment une déficience dévastatrice, et particulièrement ceux présentant un syndrome immunosuppressif. Le *C. neoformans* ayant une affinité inhabituelle pour les tissus du système nerveux central, une détection rapide et précoce est déterminante.

En 1963, Bloomfield a signalé la détection d'antigènes polysaccharidiques cryptococciques (CPS) dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien des patients souffrant de cryptococcose.[2] Dans un test réalisé ultérieurement, les chercheurs ont signalé des réactions faussement positives dans le sérum des patients présentant un facteur rhumatoïde.[3,4] En 1983, Stockman et Roberts ont présenté une nouvelle méthode enzymatique incorporant une protéase pour éliminer les facteurs d'interférence (par ex. un facteur rhumatoïde) dans le sérum.[5] De tels facteurs incluent également des complexes immuns, lesquels se sont avéré masquer l'antigène polysaccharidique cryptococcique et prévenir sa reconnaissance par des particules de latex sensibilisées. Depuis lors, il a été découvert que l'agglutination de latex est une méthode spécifique et sensible permettant la détection rapide de l'antigène polysaccharidique cryptococcique dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien.

PRINCIPE

Le kit de test antigénique Cryptococcus intègre l'utilisation de particules de latex sensibilisées avec des anticorps monoclonaux murins (souris) IgM. L'antigène polysaccharidique cryptococcique dans le sérum ou le liquide céphalo-rachidien d'un patient pour produire une agglutination visible. L'utilisation d'anticorps monoclonaux IgM et le traitement du sérum avec de la protéase réduisent le potentiel de réactions faussement positives, éliminant ainsi la nécessité d'effectuer un test concomitant de contrôle au latex afin de vérifier la spécificité des résultats.[6-7]

RÉACTIFS ET MATÉRIEL FOURNIS

1. **Latex de test:** Particules de latex sensibilisées avec un anticorps monoclonal IgM anti-polysaccharide cryptococcique dans un tampon et conservées dans du thimérosol à 0,01% (1 x 2,5 ml).
2. **Contrôle négatif:** Sérum humain normal dans un tampon conservé dans de l'azide de sodium à 0,1 % (1 x 0,8 ml)
3. **Contrôle fortement positif:** d'antigène polysaccharidique cryptococcique *C. neoformans* conservé dans de l'azide de sodium à 0,1% (1 x 0,8 ml)
4. **Contrôle faiblement positif:** d'antigène polysaccharidique cryptococcique *C. neoformans* conservé dans de l'azide de sodium à 0,1 % (1 x 0,8 ml)
5. **Protéase:** 1 cachet d'enzyme dans un flacon (se reconstitue à 3 ml)
6. **Diluant d'échantillon:** 10 x solution NaCl/Glycine conservée dans de l'azide de sodium à 1,0% (1 x 10 ml – diluer à 1x)
7. **Fiches de réaction** (12 fiches x 6 cercles chacune)
8. **Pipettes de distribution** (50)
9. **Mode d'emploi** (IFU)

PRÉCAUTIONS

Ce produit, exclusivement destiné à un usage diagnostique *in vitro,* ne doit être utilisé que par des personnes dûment formées. Toutes les précautions contre les risques microbiologiques doivent être prises en stérilisant correctement les échantillons, les récipients et les matériaux de test après usage. Il faut lire attentivement les instructions et les respecter scrupuleusement.

Précautions de sécurité:

1. Matériel potentiellement nocif pour l'organisme : Il a été démontré, en utilisant des méthodes de test homologuées par la FDA, que le sérum humain utilisé pour provoquer le contrôle négatif est non réactif à la présence d'antigènes de surface du virus de l'hépatite B (AgHBs) et d'anticorps anti-VIH et anti-VHC (virus de l'hépatite C). Aucun test ne peut garantir l'absence de tout agent infectieux ; c'est pourquoi tous les échantillons humains doivent être considérés potentiellement infectieux et manipulés en conséquence.[8]
2. Le diluant d'échantillon contient de l'azide de sodium à 1,0%, substance toxique si elle est ingérée et nocive par inhalation ou contact avec la peau ; peut être toxique pour l'environnement aquatique et provoquer des effets à long terme. En cas d'élimination des réactifs dans un évier, rincer abondamment à l'eau afin d'éviter toute accumulation d'azide.
3. Se reporter aux fiches de données de sécurité pour obtenir des informations détaillées sur les réactifs chimiques.
4. Ne pas diluer le latex de test ou les contrôles.
5. Les réactifs provenant de kits de différents lots ne sont pas interchangeables.
6. Les échantillons ne doivent être congelés et décongelés qu'une seule fois. Il est recommandé de ne pas utiliser un congélateur à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons.

STOCKAGE

Stocker le produit dans son flacon d'origine à une température comprise entre 2 et 8°C jusqu'à son utilisation. Attendre que les composants soient à température ambiante avant de les utiliser. Ne pas congeler ni surchauffer.

DÉTÉRIORATION DU PRODUIT

Ce produit ne doit pas être utilisé si (1) l'apparence des réactifs a changé, (2) la date de péremption est dépassée ou (3) d'autres signes de détérioration sont présents. Le latex de test doit devenir laiteux. Si une agglutination apparaît dans le latex et qu'elle ne se disperse pas en secouant rapidement le flacon plusieurs fois, ne pas utiliser le réactif. Les contrôles positifs et négatifs doivent être des solutions claires.

RECUEIL, CONSERVATION ET TRANSPORT DES PRÉLÈVEMENTS

Les échantillons doivent être prélevés et manipulés conformément aux recommandations en usage dans la profession.[9]

Retirer le sérum totalement coagulé et le transférer dans un tube propre et étiqueté. Les échantillons fortement hémolysés, troubles ou contenant une substance floculante (sérum ou liquide céphalo-rachidien) doivent être centrifugés avant d'être testés. Si la centrifugation n'améliore pas la qualité de l'échantillon ou que le volume est inadéquat pour être testé, collecter un second échantillon.

Stocker les échantillons dans des tubes étiquetés à 2-8°C jusqu'à une semaine ou à une température ≤-20°C pour des périodes plus longues. Les échantillons ayant été stockés doivent être vigoureusement mélangés et centrifugés à 3000 trs/min. durant 10 minutes avant le test. Tester les échantillons immédiatement après avoir suivi cette procédure.

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

(1) Agitateur clinique, capacité de 100 à 110 trs/min., (2) Pipettes graduées ou micropipetteur pour la suspension-dilution des échantillons, (3) Tubes à essais, 12 x 75 mm, (4) Minuteur, (5) Stylo marqueur, (6) Bain d'eau bouillante, (7) Flasque volumétrique ou cylindre gradué, (8) Eau déminéralisée, (9) Flacon avec bouchon à vis 1x de diluant d'échantillon prêt à l'emploi, (10) Mélangeur Vortex, lampe centrifuge à incandescence haute densité (en option).

PRÉPARATION ET STOCKAGE DU RÉACTIF

Diluant d'échantillon :

Le diluant d'échantillon est fourni à une concentration 10x. Préparer une dilution à concentration nécessaire (1x) dans une bouteille séparée en associant le contenu entier de 10 flacons de diluant d'échantillons avec 90 ml d'eau déminéralisée. Mélanger le diluant d'échantillons concentré et étiqueter avec la date d'expiration sur le diluant d'échantillons 10x. Utiliser si nécessaire ou stocker à 2-8°C.

Protéase :

Préparer la solution de protéase en ajoutant 3 ml de diluant d'échantillons prêt à l'emploi au flacon contenant le cachet d'enzyme. Attendre 30 minutes pour une restitution complète en agitant le flacon au moins deux fois pendant ce temps. Étiqueter le flacon avec la date de reconstitution. La solution de protéase peut être stockée à 2-8°C durant un mois à compter de la date de reconstitution. Il est également possible d'aliquoter la solution dans des tubes bouchés et étiquetés de manière appropriée, et de la stocker à une température ≤-20°C jusqu'à la date d'expiration du kit.

PROCÉDURE

Préparation des échantillons :

Liquide céphalo-rachidien :

1. Chauffer dans un bain d'eau bouillante (100°C) durant 5 minutes.
2. Laisser l'échantillon refroidir à température ambiante.
3. Agiter le contenu du tube avant de tester.

Sérum

1. Verser 100 à 200 µl de sérum dans un tube et ajouter le même volume de solution de protéase. Boucher et sceller le tube. Mélanger avec un agitateur vortex.
2. Placer le tube dans un bain d'eau bouillante (100°C) durant 10 minutes.
3. Laisser l'échantillon refroidir jusqu'à température ambiante et mélanger délicatement avant de tester.

Remarque : Si une floculation est observée avant et/ou après le traitement à la protéase, centrifuger l'échantillon à 3000 trs/min. durant 10 minutes à température ambiante. En utilisant une pipette de distribution ou un micropipetteur, décanter soigneusement le surnageant (50 µl) afin d'éviter d'aspirer le culot.

Test qualitatif:

Remarque: Le latex de test et les contrôles (fortement positifs, faiblement positifs et négatifs) sont fournis prêts à l'emploi dans des flacons compte-gouttes. Pour verser, tenir le flacon en position verticale et presser pour déposer une goutte dans un cercle de test d'une fiche de réaction.

1. Remettre le latex de test en suspension en retournant rapidement la bouteille plusieurs fois. Déposer une goutte de latex de test dans un cercle de test séparé pour chaque échantillon et contrôle à tester.
2. Déposer une goutte de chaque contrôle bien mélangé dans un cercle de test séparé contenant du latex de test. Utiliser l'extrémité en spatule d'une pipette séparée (fournie) pour mélanger vigoureusement chaque contrôle et test au latex. Jeter chaque pipette après cette étape.

3. En utilisant les pipettes fournies, déposer une goutte de chaque échantillon pré-traité (environ 50 µl) dans un cercle de test contenant du latex de test. Avec l'extrémité en spatule de la pipette, mélanger vigoureusement l'échantillon et le latex de test en étalant sur l'ensemble de la surface du cercle. Jeter la pipette après cette étape.
4. Placer la fiche de réaction sur un agitateur clinique et faire tourner à 100 à 110 trs/min durant 5 minutes.
5. Immédiatement après la rotation de 5 minutes, incliner la lame pour obtenir un diagramme de débit et examiner attentivement la présence d'agglutination sur chaque cercle. Comparer la réaction de chaque échantillon de test au contrôle négatif.

Remarque: Une lampe à incandescence haute-densité peut être utilisée pour aider à interpréter des résultats.

Test semi-quantitatif d'échantillons positifs:
1. Ajouter 0,1 ml de diluant d'échantillons prêt à l'emploi à chacun des 8 tubes qui ont été étiquetés de 1 à 8.
2. Ajouter 0,1 ml de liquide céphalo-rachidien chauffé ou de sérum traité à la protéase (déjà à 1:2) au tube 1. À l'aide d'une pipette propre, mélanger le contenu du tube 1 et en transférer 0,1 ml dans le tube 2. Jeter la pipette ; ne pas mélanger le contenu du tube 2 avec la pipette.
3. Avec une pipette propre, mélanger vigoureusement le contenu du tube 2 et en transférer 0,1 ml dans le tube 3. Jeter la pipette ; ne pas mélanger le contenu du tube 3 avec la pipette.
4. Poursuivre, en créant des dilutions de duplication de l'échantillon jusqu'au tube 8. Les dilutions de sérum préparées sont 1:4 à 1:512 pour les tubes 1 à 8, respectivement. Pour le liquide céphalo-rachidien, les dilutions de sérum sont 1:2 à 1:256. Le tube 8 peut être dilué davantage si aucun critère d'évaluation n'a été atteint.
5. Tester chaque échantillon selon le protocole décrit sous Test qualitatif.

INTERPRÉTATION

Test qualitatif :

Résultat positif: Toute agglutination et clarification du latex de test juste après l'étape de rotation de 5 minutes.

Résultat négatif: Toute agglutination ou clarification du latex de test juste après l'étape de rotation de 5 minutes.

Remarque : La suspension de latex de test doit devenir laiteuse et de légères traces de granularité peuvent être détectables.

Test semi-quantitatif:
Le titre est la réciprocité de la dernière dilution qui produit un résultat positif (agglutination).

VALEURS ATTENDUES

Un résultat positif indique la présence d'antigène polysaccharidique cryptococcique dans l'échantillon du patient. Un résultat négatif indique l'absence de niveaux d'antigène polysaccharidique cryptococcique détectables dans l'échantillon.

Les patients atteints du SIDA peuvent fixer l'antigène polysaccharidique cryptococcique sur de plus longues durées, ce qui peut n'avoir aucun rapport avec la multiplication active de la levure.[10-12] Le test des échantillons obtenus peut être utile pour déterminer le pronostic de la maladie. Des titres d'antigène au sérum allant de 1:2 à 1:32 678 ont été signalés chez des patients souffrant d'une infection VIH active.[13] La magnitude de tels titres ne semble pas être en corrélation avec la sévérité de l'infection mais peut s'avérer utile pour diagnostiquer une infection cryptococcique neurologique. Des titres >1:10 000 chez des patients atteints du SIDA ont été associés à une mortalité de 100%.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Tous les numéros de lots des kits de test antigénique Cryptococcus ont été testés et reconnus acceptables. Le test de contrôle de la qualité doit satisfaire aux critères établis pour les procédures de contrôle de qualité du laboratoire. En cas de résultats de contrôle de qualité aberrants, ne pas rendre les résultats des patients.

Procédure de contrôle de la qualité
Les contrôles fortement positifs, faiblement positifs et négatifs doivent tous être testés avec chaque phase d'échantillons du patient, comme décrit au chapitre Test qualitatif. Les résultats de contrôle fortement positifs et faiblement positifs doivent provoquer une agglutination différentielle du latex de test.

- Le contrôle fortement positif doit provoquer une forte agglutination.
- Le contrôle faiblement positif doit provoquer une agglutination plus faible mais clairement visible.
- Le contrôle négatif ne doit pas produire d'agglutination, bien qu'une granularité de la trace soit acceptable.

LIMITES

1. Des réactions faussement positives ont été signalées avec une synérèse (condensation de surface gélosée provenant de plaques de culture) et avec des échantillons contenant des *Trichosporon beigelii*.[14,15]
2. Une prozone survient lorsque les concentrations d'antigènes poly-saccharidiques cryptococciques sont très élevées, entraînant ce qui semble être un résultat négatif.[13] L'antigène polysaccharidique cryptococcique fixe l'anticorps murin et couvre la plupart des sites de liaison, empêchant toute agglutination du latex. Si la symptomatologie du patient est signalée comme cohérente avec la cryptococcose, diluer l'échantillon de liquide céphalo-rachidien ou de sérum traité à la protéase 1:10 et répéter le test.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE[16,17]

60 échantillons de sérum réputés non réactifs, et sélectionnés par randomisation se sont avérés négatifs (non réactifs) lorsqu'ils ont été testés avec le kit de test antigénique Cryptococcus. Parmi ces sérums, se trouvaient les échantillons de référence RF des Centres de Contrôle et de Prévention de la Maladie (1000 IU/ml), lesquels comptaient de nombreux sérums positifs au tissu conjonctif et au facteur rhumatoïde, ainsi qu'aux anticorps de la rubéole et autres anticorps non spécifiques. Ces résultats ont prouvé que le kit de test antigénique Cryptococcus offre une sensibilité optimale sans utiliser un contrôle au latex pour vérifier la spécificité.

Une étude indépendante a été menée dans un laboratoire clinique associé à un grand hôpital. Les échantillons de sérum et de liquide céphalo-rachidien (595) ont été testés avec le kit de test antigénique Cryptococcus et un autre test au latex disponible dans le commerce. Les résultats ont indiqué que la sensibilité et la spécificité du kit de test antigénique Cryptococcus est de 100%, et que les réactions ont été jugées plus simples à interpréter.

		Kit de test antigénique Cryptococcus	
		+	–
Autre test au latex	+	68	2*
	–	0	525

***Remarque:** Deux échantillons sont négatifs avec le kit de test antigénique Cryptococcus et positifs (titre de 1:2) avec l'autre test au latex. Les deux échantillons étaient négatifs par culture.

Des études de reproductivité ont été menées à l'aide du kit de test antigénique Cryptococcus et d'un autre test au latex disponible dans le commerce. La majorité (96%) des titres obtenus avec les deux tests étaient à 1 tube de dilution chacun de l'autre.

BIBLIOGRAPHIE

1. Patterson, T.F. and V.T. Andriole. 1989. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8:457-465.
2. Bloomfield, N., M.A. Gordon, and D.F. Elmendorff, Jr. 1963. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 114:64-67.
3. Kaufman, L. and S. Blumer. 1977. Proc. Int. Conf. Mycoses., Pan Am. Health Org. 356:176-182.
4. Asznowicz, R., H. Newton-John, and J. Kaldor. 1979. Med. J. Aust. 1:347-349.
5. Stockman, L. and G.D. Roberts. 1983. J. Clin. Microbiol. 17:945-947.
6. Gray, L.D. and G.D. Roberts. 1988. J. Clin. Microbiol. 26:2450-2451.
7. Hamilton, J.R., A. Nobel, D.W. Denning, and D.A. Stevens. 1991. J. Clin. Microbiol. 29:333-339.
8. Chosewood, L.C. and D.E. Wilson. 2007. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. U.S. Dept. of H.H.S., CDC and National Institutes of Health, Washington, D.C.
9. Murray P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller. 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
10. Kovacs, J.A., A.A. Kovacs, M. Polis, W.C. Wright, V.J. Gill, C.U Tuazon, E.P Gelmann, H.C. Lane, R. Longfield, G. Overturf, A.M. Macher, A.S. Fauci, J.E. Parrillo, J.E. Bennett, and H. Masur. 1985. Ann. Int. Med. 103:533-538.
11. Eng, R.H., E. Bishburg, S.M Smith, and R. Kapila. 1986. Am. J. Med. 81:19-23.
12. Chuck, S.L. and M.A. Sande. 1989. N. Engl. J. Med. 321:794-798.
13. Dimech, W.J. 1991. Aust. J. Med. Lab. Sci. 12:13-21.
14. Boom, W.H., D.J. Piper, K.L. Ruoff, and M.J. Ferraro. 1985. J. Clin. Microbiol.22:856-857.
15. Melcher, G.P., K.D. Reed, M.G. Rinaldi, J.W. Lee, P.A. Pizzo, and T.J. Walsh. 1991. J. Clin. Microbiol. 29:192-196.
16. Howell, D., D. Orkiszewski, and P. Gilligan. 1993. Abstract C-160. Abstracts of the 93rd Gen. Mtg. of the ASM. ASM, Washington, D.C.
17. Kiska, D.L., D.R. Orkiszewski, D. Howell, and P.H. Gilligan. 1994. J. Clin. Microbiol. 32:2309-2311.

CONDITIONNEMENT

REF R30851501, Cryptococcus Antigen Test Kit..... 50 tests/kit

Légende des Symboles

REF	Numéro de référence catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
LAB	Pour utilisation en laboratoire
	Consulter le mode d'emploi (IFU)
	Limites de température (stockage)
LOT	Code du lot (numéro de lot)
	À utiliser avant le (date de péremption)
EC REP	Représentant autorisé pour l'UE

CE

IFU 30851501, révisée le 2009-12-02 Imprimée aux Etats-Unis

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, États-Unis
Renseignements: (800) 255-6730 Site Web: www.remel.com E-mail: remel@remel.com
Téléphone (international): +1 (913) 888-0939 Télécopie (international): +1 (913) 895-4128

remel

CRYPTOCOCCUS ANTIGEN TEST KIT

USO PREVISTO
Il Kit Remel per il test antigenico del Criptococco è un test semplice, qualitativo o semiquantitativo, della durata di 5 minuti per la rilevazione di antigeni polisaccaridi associati a un'infezione derivante da *Criptococcus neoformans*. Come campioni possono essere usati siero o liquido cerebrospinale (CSF).

SOMMARIO E SPIEGAZIONE
La Criptococcosi è un'infezione sistemica causata dal lievito, *C. neoformans*.[1] Riserve naturali di *C. neoformans* sono la terra e le feci aviarie. L'inalazione delle cellule di lievito può causare un'infezione polmonare e possibili malattie diffuse. I pazienti spesso presentano una debilitazione devastante, specialmente quei soggetti affetti da sindrome immunosoppressiva. Poiché il *C. neoformans* possiede un'inusuale attrazione per il tessuto del sistema nervoso centrale, un'individuazione rapida e precoce è di fondamentale importanza.

Nel 1963, Bloomfield ha riscontrato la rilevazione di antigeni polisaccaridi criptococcali (CPS) nel siero e nel CFS di pazienti affetti da criptococcosi.[2] In analisi successive, i ricercatori hanno riscontrato reazioni false positive nel siero di pazienti affetti da fattore reumatoide.[3,4] Nel 1983, Stockman e Roberts hanno introdotto un metodo enzimatico, incorporando la proteasi per eliminare i fattori di interferenza (ad esempio il fattore reumatoide) nel siero.[5] Suddetti fattori comprendono anche gli immunocomplessi i quali, come è stato dimostrato, celano l'antigene CPS e ne impediscono l'identificazione da parte di particelle di lattice sensibilizzate. Da allora, è stato scoperto che l'agglutinazione del lattice è un metodo specifico e sensibile per una veloce individuazione dell'antigene CPS nel siero e nel CFS.

PRINCIPIO
Il Kit per test antigenico del Criptococco prevede l'utilizzo di particelle di lattice sensibilizzate con anticorpi monoclonali murini (di topo) IgM. L'antigene CPS nel siero o nel CSF del paziente reagisce con le particelle di lattice sensibilizzate producendo un evidente fenomeno di agglutinazione. L'utilizzo di anticorpi monoclonali IgM e il trattamento del siero con proteasi riducono il potenziale di reazioni false positive, eliminando la necessità di effettuare un test parallelo di controllo lattice per verificare la specificità dei risultati.[6-7]

REAGENTI E MATERIALI FORNITI
1. **Reagente lattice:** Particelle di lattice sensibilizzate con anticorpo monoclonale IgM anti-CPS in soluzione tampone e conservate in una soluzione di timerosolo 0,01% (1 x 2,5 mL)
2. **Controllo negativo:** Siero umano normale in soluzione tampone conservato in 0,1% di Sodio azide (1 x 0,8 mL)
3. **Controllo positivo alto:** di antigene *C. neoformans* CPS conservato in 0,1% di Sodio azide (1 x 0,8 mL)
4. **Controllo positivo basso:** di antigene *C. neoformans* CPS conservato in 0,1% di Sodio azide (1 x 0,8 mL)
5. **Proteasi:** 1 tavoletta di enzimi in fiala (ricostituisce 3 mL)
6. **Diluente per campioni:** 10x soluzione NaCl/glicina conservata in 1,0% di Sodio azide (1 x 10 mL - diluire a 1x)
7. **Carte di reazione** (12 carte x 6 cerchi ciascuna)
8. **50 pipette di dispensazione**
9. **Istruzioni per l'uso** (IFU)

PRECAUZIONI
Il prodotto è indicato esclusivamente per uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato solo da personale competente ed esperto. Si raccomanda di attenersi alle precauzioni contro eventuali rischi microbiologici, sterilizzando opportunamente dopo l'uso campioni, contenitori e materiali per test. Leggere con attenzione le istruzioni contenute in questo documento e attenervisi scrupolosamente.

Precauzioni di sicurezza:
1. Il prodotto può essere biologicamente pericoloso: si è dimostrato che il siero umano utilizzato per la preparazione del controllo negativo non reagisce in presenza dell'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e degli anticorpi anti-HIV e anti-HCV, utilizzando i metodi di analisi autorizzati dall'FDA. Poiché nessun test può assicurare l'assenza di tutti gli agenti infettivi, tutti i campioni umani devono essere considerati potenzialmente infettivi e maneggiati con le dovute accortezze.[8]
2. Il diluente per campioni contiene 1,0% di Sodio azide che è tossico qualora ingerito e dannoso se inalato o a contatto con la pelle, potrebbe essere tossico per l'ambiente acquatico e causare problemi con effetti a lungo termine. Quando si versano i reagenti nel lavandino, sciacquare con grandi quantità di acqua per evitare l'accumulo di azide.
3. Consultare la Scheda di Sicurezza del prodotto per informazioni dettagliate sui reagenti chimici.
4. Non diluire i reagenti o i controlli lattice.
5. Non scambiare alcun reagente di un kit con altri di un lotto differente.
6. I campioni non devono essere congelati e scongelati più di una volta. Si sconsiglia l'uso di un congelatore autosbrinante per la conservazione dei campioni.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE
Il prodotto deve essere conservato nel suo contenitore originale a una temperatura di 2-8°C fino al momento dell'utilizzo. Portare i componenti a temperatura ambiente prima dell'uso. Non congelare né surriscaldare.

DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO
Questo prodotto non deve essere usato se: (1) i reagenti hanno cambiato aspetto, (2) ha superato la data di scadenza oppure (3) presenta segni di deterioramento. Il reagente lattice deve apparire lattescente. Qualora l'agglutinazione nel lattice sia evidente e non venga dispersa mediante inversione rapida della bottiglia operata varie volte, non utilizzare il reagente. I controlli positivi e negativi devono essere soluzioni trasparenti.

PRELIEVO, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI
Prelevare e trattare i campioni attenendosi alle linee guida raccomandate.[9]

Rimuovere il siero dal sangue intero completamente coagulato e trasferire in una provetta pulita ed etichettata. I campioni che siano fortemente emolizzati, torbidi o che contengano flocculanti (siero o CSF) devono essere centrifugati prima di essere sottoposti ad analisi. Qualora la centrifugazione non dovesse migliorare la qualità dei campioni, o il volume non fosse adeguato per le analisi, prelevare un secondo campione.

Conservare i campioni in provette sigillate ed etichettate a una temperatura di 2-8°C per una settimana al massimo o a ≤-20°C per periodi più lunghi. I campioni conservati devono essere ben miscelati e centrifugati a 3000 rpm per 10 minuti, prima di essere sottoposti ad analisi. Analizzare i campioni immediatamente dopo averli processati.

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO
(1) Agitatore rotante clinico con velocità a 100/110 rpm, (2) pipette graduate o microinfusore per le diluzioni seriali dei campioni, (3) provette per test, 12 x 75 mm, (4) cronometro, (5) penna per le annotazioni, (6) bagnomaria bollente, (7) matraccio o cilindro graduato, (8) acqua demineralizzata, (9) bottiglia con coperchio a vite per il diluente per campioni 1x preparato in modo ottimale, (10) mixer Vortex, centrifuga, lampada incandescente ad alta intensità (optional).

PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEL REAGENTE
Diluente per campioni:
Il diluente per campioni è fornito a una concentrazione 10x. Preparare una diluizione ottimale (concentrazione 1x) in una bottiglia separata, unendo tutto il contenuto della bottiglia di diluente per campioni 10x con 90 mL di acqua demineralizzata. Miscelare il diluente per campioni ottimale e apporre l'etichetta con la data di scadenza sul diluente per campioni 10x. Utilizzare secondo le necessità e conservare a 2-8°C.

Proteasi:
Preparare la soluzione di proteasi aggiungendo 3 mL di diluente per campioni ottimale alla fiala contenente la tavoletta di enzimi. Attendere 30 minuti per la completa ricostituzione, agitando la fiala almeno due volte durante suddetto lasso di tempo. Etichettare la fiala con la data di ricostituzione. La soluzione di proteasi può essere conservata a 2-8°C per un mese dalla data di ricostituzione. In alternativa, aliquotare la soluzione nelle rispettive provette chiuse ed etichettate e conservare a ≤-20°C fino alla data di scadenza del kit.

PROCEDIMENTO
Preparazione dei campioni:
CSF
1. Riscaldare a bagnomaria bollente (100°) per 5 minuti.
2. Attendere che il campione raggiunga la temperatura ambiente.
3. Miscelare con il Vortex il contenuto della provetta prima di procedere con l'analisi.

Siero
1. Versare da 100 a 200 µl di siero in una provetta e aggiungere un volume equivalente di soluzione proteasi. Chiudere e sigillare la provetta. Miscelare con il Vortex.
2. Riscaldare a bagnomaria bollente (100°C) per 10 minuti.
3. Attendere che il campione raggiunga la temperatura ambiente e miscelare delicatamente prima di procedere con le analisi.

Nota: qualora si osservasse la presenza di flocculazione prima e/o dopo il trattamento con proteasi, centrifugare il campione a 3000 rpm per 10 minuti a temperatura ambiente. Utilizzando una pipetta di dispensazione o un microinfusore, decantare attentamente la sostanza sulla superficie del precipitato (50 µl), per evitare di aspirare il pellet.

Analisi qualitativa:
Nota: il reagente e i controlli lattice (positivo alto, positivo basso e negativo) sono forniti in modo ottimale in bottiglie dotate di contagocce. Per la somministrazione, tenere la bottiglia in posizione verticale e spremere, lasciando cadere una goccia nel cerchio del test di una carta di reazione.

1. Mettere nuovamente in sospensione il reagente lattice, capovolgendo rapidamente la bottiglia numerose volte. Versare una goccia del reagente lattice in un cerchio separato del test per analizzare ciascun campione e controllo.
2. Versare una goccia di ciascun controllo ben miscelato in un cerchio del test separato e contenente il reagente lattice. Utilizzare la parte finale a spatola di un'altra pipetta (in dotazione) per miscelare con forza ciascun controllo e ciascun reagente lattice. Gettare le pipette al termine di suddetta fase.

3. Utilizzando le pipette in dotazione, versare una goccia di ciascun campione pretrattato (circa 50 µl) in un cerchio del test contenente il reagente lattice. Con l'estremità finale a spatola della pipetta, miscelare con forza il campione e il reagente lattice, coprendo l'intera area del cerchio. Gettare le pipette al termine di suddetta fase.
4. Posizionare la carta di reazione su di un agitatore rotante clinico e far girare a 100/110 rpm per 5 minuti.
5. Subito dopo la rotazione di 5 minuti, inclinare il vetrino per ottenere una combinazione del flusso ed esaminare con attenzione l'agglutinazione in ciascun cerchio. Mettere a confronto la reazione di ciascun campione analizzato con il controllo negativo.

Nota: è possibile utilizzare una lampada incandescente ad alta intensità per facilitare la lettura dei risultati.

Analisi semiquantitativa di campioni positivi:

1. Aggiungere 0,1 mL di diluente per campioni ottimale a ciascuna delle 8 provette numerate da 1 a 8.
2. Aggiungere 0,1 mL di CSF trattata con calore o di siero trattato con proteasi (già a 1:2) alla provetta 1. Utilizzando una pipetta pulita, miscelare il contenuto della provetta 1 e trasferirne 0,1 mL nella provetta 2. Gettare la provetta; non mischiare il contenuto della provetta 2 con quello della pipetta.
3. Con una pipetta pulita, miscelare con forza il contenuto della provetta 2 e trasferirne 0,1 mL nella provetta 3. Gettare la pipetta, non mischiare il contenuto della provetta 3 con quello della pipetta.
4. Mediante la produzione di seriali, procedere alla duplicazione delle diluizioni del campione dalla provetta 8. Le diluizioni di siero preparate sono rispettivamente da 1:4 a 1:512 per le provette da 1 a 8. Per il CSF, le diluizioni di siero sono da 1:2 a 1:256. È possibile diluire ulteriormente il contenuto della provetta 8 qualora non si raggiunga il punto finale.
5. Analizzare ciascuna diluizione campione seguendo il protocollo descritto nella sezione Analisi qualitativa.

INTERPRETAZIONE

Analisi qualitativa:

Risultato positivo - Qualsiasi fenomeno di agglutinazione o formazione di grumi e schiarite del Test Latex immediatamente dopo i 5 minuti di rotazione

Risultato negativo - Nessun fenomeno di agglutinazione, formazione di grumi o schiarite del reagente lattice immediatamente dopo i 5 minuti di rotazione
Nota: la sospensione del reagente lattice deve apparire lattescente e si devono osservare leggere tracce di granulosità.

Test semiquantitativo:

Il titolo è il reciproco dell'ultima diluizione che produce un risultato positivo (agglutinazione).

RISULTATI ATTESI

Un risultato positivo indica la presenza dell'antigene CPS nel campione del paziente. Un risultato negativo indica l'assenza dell'antigene CPS nel campione.

I pazienti affetti da AIDS possono trattenere l'antigene CPS per lunghi periodi di tempo, effetto che potrebbe non essere causato dall'attiva moltiplicazione del lievito.[10-12] Ai fini della prognosi della malattia, potrebbe essere utile analizzare ulteriori campioni. Titoli dell'antigene del siero da 1:2 a 1:32,678 sono stati trovati in pazienti con un'infezione HIV attiva.[13] La magnitudine dei suddetti titoli non sembra correlata alla severità dell'infezione, ma potrebbe risultare utile nella diagnosi dell'infezione neurologica criptococcale. I titoli >1:10,000 nei pazienti affetti da AIDS sono stati associati al 100% di mortalità.

CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i numeri di lotto del Kit per test antigenico del Criptococco sono stati testati ottenendo risultati ritenuti soddisfacenti. Eseguire i test di controllo qualità in conformità con le procedure di controllo qualità definite dal laboratorio. Se i test di controllo qualità forniscono risultati aberranti, i risultati ottenuti con i campioni in esame non devono essere refertati.

Procedure di Controllo Qualità

I controlli positivi alti, positivi bassi e negativi devono essere effettuati con qualsiasi test sui campioni dei pazienti, come descritto nella sezione Analisi qualitativa. I controlli positivi alti e positivi bassi devono agglutinarsi al reagente lattice in maniera diversa.

- I controlli positivi alti devono produrre un evidente fenomeno di agglutinazione.
- I controlli positivi bassi devono produrre un fenomeno di agglutinazione più debole ma chiaramente visibile.
- I controlli negativi non devono produrre alcun fenomeno di agglutinazione, sebbene siano accettabili tracce di granulosità.

LIMITAZIONI

1. Sono state riscontrate reazioni false positive con il liquido di sineresi (condensazione sulla superficie agar dalle piastre di coltura) e con i campioni contenenti *Trichosporon beigelii*.[14,15]
2. L'effetto prozona si verifica quando le concentrazioni degli antigeni CPS sono molto elevate, causando quello che potrebbe sembrare un risultato negativo.[13] L'antigene CPS si lega con l'anticorpo murino e copre la maggior parte dei siti di legame, impedendo l'agglutinazione del lattice. Qualora la sintomatologia del paziente sia coerente con la criptococcosi, diluire il siero campione CSF o trattato con proteasi 1:10 e ripetere il test.

PRESTAZIONI[16,17]

Sei campioni di siero, notoriamente non reattivi e scelti a caso, sono risultati negativi (non reattivi) al test antigenico del Criptococco. Questi sieri comprendevano i campioni (1000 IU/ml) di riferimento dell'FR dei Centres for Disease Control and Prevention (Centri per il controllo e la prevenzione delle Malattie) e includevano molti campioni del tessuto connettivo e positivi al fattore reumatoide, insieme agli anticorpi contro la Rubella e altri anticorpi non specifici. Questi risultati hanno dimostrato come il Kit per test antigenico del Criptococco fornisca un ottimo livello di sensibilità, senza l'utilizzo del controllo lattice per verificare la specificità.

Presso un laboratorio clinico di un importante ospedale è stato condotto uno studio indipendente. Campioni di siero e CSF (595) sono stati analizzati con il Kit per test antigenico del Criptococco e un altro test del lattice in commercio. I risultati hanno dimostrato che la sensibilità e la specificità del Kit per test antigenico del Criptococco sono del 100% e le reazioni sono state ritenute di più facile interpretazione.

		Kit per test antigenico del Criptococco	
		+	–
Altro test del lattice	+	68	2*
	–	0	525

***Nota:** due campioni sono risultati negativi al test antigenico del Criptococco e positivi (titolo di 1:2) all'altro test del lattice. Entrambi i campioni sono risultati negativi tramite coltura.

Sono stati condotti studi di riproducibilità con il Kit per test antigenico del Criptococco e un altro test del lattice in commercio. La maggior parte (96%) dei titoli ottenuti con entrambi i test si differenziavano per 1 diluizione di provetta.

BIBLIOGRAFIA

1. Patterson, T.F. and V.T. Andriole. 1989. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8:457-465.
2. Bloomfield, N., M.A. Gordon, and D.F. Elmendorff, Jr. 1963. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 114:64-67.
3. Kaufman, L. and S. Blumer. 1977. Proc. Int. Conf. Mycoses., Pan Am. Health Org. 356:176-182.
4. Asznowicz, R., H. Newton-John, and J. Kaldor. 1979. Med. J. Aust. 1:347-349.
5. Stockman, L. and G.D. Roberts. 1983. J. Clin. Microbiol. 17:945-947.
6. Gray, L.D. and G.D. Roberts. 1988. J. Clin. Microbiol. 26:2450-2451.
7. Hamilton, J.R., A. Nobel, D.W. Denning, and D.A. Stevens. 1991. J. Clin. Microbiol. 29:333-339.
8. Chosewood, L.C. and D.E. Wilson. 2007. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. U.S. Dept. of H.H.S., CDC and National Institutes of Health, Washington, D.C.
9. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M.A. Pfaller. 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
10. Kovacs, J.A., A.A. Kovacs, M. Polis, W.C. Wright, V.J. Gill, C.U Tuazon, E.P Gelmann, H.C. Lane, R. Longfield, G. Overturf, A.M. Macher, A.S. Fauci, J.E. Parrillo, J.E. Bennett, and H. Masur. 1985. Ann. Int. Med. 103:533-538.
11. Eng, R.H., E. Bishburg, S.M Smith, and R. Kapila. 1986. Am. J. Med. 81:19-23.
12. Chuck, S.L. and M.A. Sande. 1989. N. Engl. J. Med. 321:794-798.
13. Dimech, W.J. 1991. Aust. J. Med. Lab. Sci. 12:13-21.
14. Boom, W.H., D.J. Piper, K.L. Ruoff, and M.J. Ferraro. 1985. J. Clin. Microbiol.22:856-857.
15. Melcher, G.P., K.D. Reed, M.G. Rinaldi, J.W. Lee, P.A. Pizzo, and T.J. Walsh. 1991. J. Clin. Microbiol. 29:192-196.
16. Howell, D., D. Orkiszewski, and P. Gilligan. 1993. Abstract C-160. Abstracts of the 93rd Gen. Mtg. of the ASM. ASM, Washington, D.C.
17. Kiska, D.L., D.R. Orkiszewski, D. Howell, and P.H. Gilligan. 1994. J. Clin. Microbiol. 32:2309-2311.

CONFEZIONE

REF R30851501, Cryptococcus Antigen Test Kit..... Kit per 50 test

Legenda dei Simboli

REF	Numero catalogo
IVD	Dispositivo per uso diagnostico in vitro
LAB	Per uso in laboratorio
	Consultare le istruzioni per l'uso (Istruzioni per l'uso)
	Limitazioni per temperatura (Temperatura di conservazione).
LOT	Codice lotto (Numero lotto)
	Da utilizzare entro (data di scadenza.)
EC REP	Rappresentante autorizzato per l'Europa

CE

IFU 30851501, Data ultima revisione: 2009-12-02 Stampato negli U.S.A.

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
Informazioni generali: (800) 255-6730 Sito web: www.remel.com E-Mail: remel@remel.com
Tel. locali/internazionali: (913) 888-0939 Fax internazionale: (913) 895-4128

remel

CRYPTOCOCCUS ANTIGEN TEST KIT

USO PREVISTO
El Kit de prueba para el antígeno del criptococo de Remel es una prueba sencilla, cualitativa o semicuantitativa, de cinco minutos para la detección de antígenos polisacáridos asociados con la infección por *Cryptococcus neoformans*. Se puede utilizar suero o líquido cefalorraquídeo (LCR) como muestra.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN
La criptococosis es una infección sistémica causada por la levadura *C. neoformans*.[1] Los reservorios naturales para el *C. neoformans* son la suciedad y las heces aviares. La inhalación de levaduras puede comportar infecciones pulmonares y enfermedades posiblemente diseminadas. Con frecuencia, los pacientes presentan una grave debilitación, especialmente aquellos que padecen un síndrome inmunosupresor. Puesto que el *C. neoformans* tiene una afinidad poco habitual por el tejido del sistema nervioso central, es fundamental una detección rápida y temprana.

En el año 1963, Bloomfield informó sobre la detección de antígenos polisacáridos del criptococo (CPS) en el suero y el LCR de pacientes con criptococosis.[2] En pruebas posteriores, los investigadores informaron de falsos positivos en el suero de pacientes con factor reumatoide.[3,4] En 1983, Stockman y Roberts introdujeron un método enzimático que incorporaba proteasa para eliminar factores de interferencia (p. ej., factor reumatoide) en el suero.[5] Dichos factores también incluyen complejos inmunes, que se han mostrado capaces de enmascarar el antígeno CPS e impedir su reconocimiento mediante partículas de látex sensibilizadas. Desde entonces, la aglutinación de látex se ha considerado un método específico y sensible para la rápida detección de antígeno CPS en suero y en LCR.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA
El kit de prueba para el antígeno del criptococo incorpora el uso de partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos monoclonales tipo IgM murinos (de ratón). El antígeno CPS en el suero o el LCR del paciente interacciona con las partículas de látex sensibilizadas y produce una aglutinación visible. El uso de anticuerpos monoclonales de tipo IgM y el tratamiento del suero con proteasa reduce las posibilidades de obtener falsos positivos y elimina la necesidad de realizar una prueba con látex de control complementaria para verificar la especificidad de los resultados.[6-7]

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS
1. **Látex de prueba:** partículas de latex sensibilizadas con anticuerpo monoclonal anti-CPS IgM en un tampón, conservadas en timerosol al 0,01% (1 x 2,5 ml)
2. **Control negativo:** suero humano normal en un tampón, conservado en azida sódica al 0,1% (1 x 0,8 ml)
3. **Control positivo alto:** de antígeno CPS *C. neoformans,* conservado en azida sódica al 0,1% (1 x 0,8 ml)
4. **Control positivo bajo:** de antígeno CPS *C. neoformans,* conservado en azida sódica al 0,1% (1 x 0,8 ml)
5. **Proteasa:** 1 tableta enzimática en un vial (se reconstituye hasta 3 ml)
6. **Diluyente de muestra:** solución 10x de NaCl/Glicina conservada en azida sódica al 1,0% (1 x 10 ml – diluye hasta 1x)
7. **Tarjetas de reacción** (12 tarjetas x 6 círculos cada una)
8. **Pipetas de dispensación** (50)
9. **Instrucciones de uso** (IFU)

PRECAUCIONES
Este producto es de uso diagnóstico *in vitro* y debe ser utilizado por personal con la formación adecuada. Deben tomarse precauciones frente a los riesgos microbiológicos, esterilizando correctamente muestras, recipientes y materiales de análisis después de su uso. Se deben leer y seguir atentamente las instrucciones.

Precauciones de seguridad:
1. Material potencialmente biopeligroso: el suero humano utilizado para elaborar el control negativo se ha mostrado no reactivo ante la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y de los anticuerpos para el VIH utilizando métodos de prueba autorizados por la FDA (Food and Drug Administration) de los EE.UU. Puesto que ninguna prueba puede garantizar la ausencia de cualquier agente infeccioso, todas las muestras humanas deben considerarse potencialmente infecciosas y manipularse como tal.[8]
2. El diluyente de muestra contiene azida sódica al 1,0%, que resulta tóxica si se ingiere y nociva por inhalación o contacto cutáneo; también puede ser tóxica para el medio acuático y provocar efectos a largo plazo. Al verter reactivos en un fregadero, lávelo con grandes cantidades de agua para impedir la acumulación de azida.
3. Para una información más detallada sobre productos químicos, consulte la Hoja de datos de seguridad de los materiales.
4. No diluya el látex de prueba ni los controles.
5. No intercambie los reactivos entre kits de diferentes lotes.
6. Las muestras no deben congelarse y descongelarse más de una vez. No se recomienda el uso de un congelador con función antiescarcha para el almacenamiento de las muestras.

ALMACENAMIENTO
Guarde este producto en su envase original, a una temperatura de 2-8°C hasta el momento de su uso. Deje estabilizar los componentes a temperatura ambiente antes de su uso. No lo congele ni lo sobrecaliente.

DETERIORO DEL PRODUCTO
Este producto no se debe usar si: 1) la apariencia de los reactivos ha cambiado; 2) se ha sobrepasado la fecha de caducidad, o 3) hay otros signos de deterioro. El látex de prueba debe tener un aspecto blanquecino. Si se observa aglutinación en el látex y ésta no se dispersa al invertir el frasco rápidamente varias veces, no utilice el reactivo. Los controles positivo y negativo deben ser soluciones transparentes.

RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE MUESTRAS
Las muestras se deben recoger y manipular de acuerdo con las recomendaciones siguientes.[9]

Extraiga el suero de sangre total completamente coagulada y transfiéralo a un tubo limpio y etiquetado. Las muestras mal hemolizadas, turbias o que contienen material floculante (suero o LCR) deben centrifugarse antes de la prueba. Si la centrifugación no mejora la calidad de la muestra o si el volumen es inadecuado para la prueba, recoja una segunda muestra.

Guarde las muestras en tubos sellados y etiquetados a una temperatura de 2-8°C hasta una semana o a ≤-20°C para periodos de tiempo más largos. Las muestras que han sido guardadas deben mezclarse bien y centrifugarse a 3000 rpm durante 10 minutos antes de la prueba. Analice las muestras inmediatamente después de procesarlas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS
(1) Rotador clínico capaz de alcanzar 100-110 rpm, (2) pipetas graduadas o una micropipeta para la dilución en serie de muestras, (3) tubos de ensayo de 12 x 75 mm, (4) cronómetro, (5) rotulador, (6) baño maría en ebullición, (7) matraz aforado o cilindro graduado, (8) agua desmineralizada, (9) frasco con tapa de rosca para diluyente de muestra preparado a la concentración de trabajo 1x, (10) mezclador tipo vórtex, centrífuga, lámpara incandescente de alta intensidad (opcional).

PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO
Diluyente de muestra:
El diluyente de muestra se suministra a una concentración de 10x. Prepare una dilución a la concentración de trabajo (1x) en un frasco diferente combinando el contenido entero del frasco de diluyente de muestra 10x con 90 ml de agua desmineralizada. Mezcle el diluyente de muestra a la concentración de trabajo y etiquételo con la fecha de caducidad en el diluyente de muestra 10x. Utilícelo cuando sea necesario o guárdelo a 2-8°C.

Proteasa:
Prepare la solución de proteasa añadiendo al vial que contiene la tableta enzimática 3 ml de diluyente de muestra a la concentración de trabajo. Espere 30 minutos para obtener una reconstitución completa y haga girar el vial al menos dos veces durante este tiempo. Etiquete el vial con la fecha de reconstitución. La solución de proteasa puede almacenarse a 2-8ºC durante un mes a partir de la fecha de reconstitución. Como alternativa, divida la solución a partes iguales en tubos adecuadamente tapados y etiquetados y almacénelos a ≤-20 °C hasta la fecha de caducidad del kit.

PROCEDIMIENTO
Preparación de las muestras:
LCR
1. Caliente en un baño de agua hirviendo (100°C) durante 5 minutos.
2. Deje que la muestra se enfríe hasta llegar a la temperatura ambiente.
3. Agite en el vórtex el contenido del tubo antes de la prueba.

Suero
1. Introduzca de 100 a 200 µl de suero en un tubo y añada el mismo volumen de solución de proteasa. Tapone el tubo y séllelo. Mezcle agitando en el vórtex.
2. Coloque el tubo en un baño maría en ebullición (100°C) durante 10 minutos.
3. Deje que la muestra se enfríe hasta llegar a la temperatura ambiente y agítela suavemente antes de la prueba.

Nota: si detecta floculación antes o después del tratamiento de proteasa, centrifugue la muestra a 3.000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente. Con una pipeta o una micropipeta, decante con cuidado el sobrenadante (50 µl) para evitar la aspiración del sedimento.

Prueba cualitativa:
Nota: el látex de prueba y los controles (positivo alto, positivo bajo y negativo) se suministran a la concentración de trabajo en frascos cuentagotas. Dispense sosteniendo el frasco en posición vertical y apriete para suministrar una gota en un círculo de prueba de una tarjeta de reacción.

1. Vuelva a suspender el látex de prueba invirtiendo rápidamente el frasco varias veces. Dispense una gota del látex de prueba en un círculo de prueba diferente para cada muestra y control que deba ser analizado.
2. Dispense una gota de cada control bien mezclado en un círculo de ensayo diferente que contenga látex de prueba. Utilice el extremo plano de una pipeta diferente (suministrada) para mezclar cuidadosamente cada control y látex de prueba. Deseche la pipeta después de este paso.
3. Utilice las pipetas suministradas, dispense una gota de cada muestra pretratada (aproximadamente 50 µl) en un círculo de prueba que contenga látex de prueba. Con el extremo plano de la pipeta, mezcle cuidadosamente la muestra y el látex de prueba, y extiéndalos sobre todo el área del círculo. Deseche la pipeta después de este paso.

4. Coloque la tarjeta de reacción en un rotador clínico, y hágalo girar a 100-110 rpm durante 5 minutos.
5. Inmediatamente después de la rotación de 5 minutos, incline el portaobjetos para obtener un patrón de flujo y examine minuciosamente cada círculo en búsqueda de aglutinaciones. Compare la reacción de cada muestra de prueba con el control negativo.

Nota: una lámpara incandescente de alta intensidad puede facilitar la interpretación de los resultados.

Prueba semicuantitativa de muestras positivas:

1. Añada 0,1 ml de diluyente de muestra a la concentración de trabajo en cada uno de los 8 tubos que han sido etiquetados del 1 al 8.
2. Añada 0,1 ml del LCR tratado con calor o del suero tratado con proteasa (ya a 1:2) en el tubo 1. Con una pipeta limpia, mezcle los contenidos del tubo 1 y transfiera 0,1 ml al tubo 2. Deseche la pipeta; no mezcle los contenidos del tubo 2 con la pipeta.
3. Con una pipeta limpia, mezcle cuidadosamente los contenidos del tubo 2 y transfiera 0,1 ml al tubo 3. Deseche la pipeta; no mezcle los contenidos del tubo 3 con la pipeta.
4. Siga efectuando diluciones dobles de la muestra en serie hasta el tubo 8. Las diluciones en suero preparadas son de 1:4 hasta 1:512 para los tubos 1-8 respectivamente. Para el LCR, las diluciones de suero son de 1:2 a 1:256. El tubo 8 puede diluirse todavía más si no se ha alcanzado un criterio de valoración.
5. Analice cada dilución de muestra siguiendo el protocolo descrito en en el apartado Prueba cualitativa.

INTERPRETACIÓN

Prueba cualitativa:

Resultado positivo — Cualquier aglutinación o aglomeración y transparencia del látex de prueba inmediatamente después de los 5 minutos de rotación.

Resultado negativo — Ninguna aglutinación ni aglomeración ni transparencia del látex de prueba inmediatamente después de los 5 minutos de rotación.

Nota: la suspensión del látex de prueba debe tener un aspecto blanquecino y podrían detectarse rastros tenues de granularidad.

Prueba semicuantitativa:

La titulación es la recíproca de la última dilución que produce un resultado positivo (aglutinación).

VALORES ESPERADOS

Un resultado positivo indica la presencia de antígeno CPS en la muestra de un paciente. Un resultado negativo indica la ausencia de niveles detectables de antígeno CPS en la muestra.

Los pacientes con SIDA pueden conservar antígeno CPS durante largos periodos, lo que puede no deberse a la multiplicación activa de la levadura.[10-12] El análisis de las muestras posteriores puede ser de utilidad para determinar el pronóstico de la enfermedad. En pacientes con infección por VIH activa se han observado titulaciones de antígenos del suero que oscilan entre 1:2 y 1:32.678.[13] La magnitud de tales titulaciones no parece estar correlacionada con la gravedad de la infección, pero puede ser útil para el diagnóstico de infecciones neurológicas criptococales. Las titulaciones de >1:10,000 en pacientes con SIDA se han asociado con un 100% de mortalidad.

CONTROL DE CALIDAD

Se han probado todos los lotes del Kit de prueba para el antígeno del criptococo y los resultados han sido aceptables. Deben realizarse pruebas de control de calidad adecuadas a los procedimientos correspondientes establecidos en el laboratorio. Si se observan resultados anómalos en el control de calidad, no deben comunicarse los resultados de los pacientes.

Procedimiento de control de calidad

Los controles positivo alto, positivo bajo y negativo deben analizarse cada uno con cada serie analítica con muestras de pacientes, tal como se describe en el apartado Prueba cualitativa. Los controles positivo alto y positivo bajo deben aglutinar el látex de prueba de modo diferencial.

- El control positivo alto debe producir una fuerte aglutinación.
- El control positivo bajo debe producir una aglutinación más débil pero claramente visible.
- El control negativo no debe producir ninguna aglutinación, aunque son aceptables rastros de granularidad.

LIMITACIONES

1. Se han observado falsos positivos con fluido de sinéresis (condensación de agar en la superficies de las placas de cultivo) y con muestras que contenían *Trichosporon beigelii*.[14,15]
2. Se produce prozona cuando las concentraciones de antígenos CPS son muy elevadas, lo que origina un aparente resultado negativo.[13] El antígeno CPS se une al anticuerpo murino y cubre la mayor parte de los puntos de unión, lo que impide la aglutinación del látex. Si se observa que la sintomatología del paciente es compatible con criptococosis, diluya la muestra de LCR o de suero tratado con proteasa 1:10 y repita la prueba.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO[16,17]

Sesenta muestras de suero seleccionadas aleatoriamente y que se sabían no reactivas dieron negativo (no reactivo) al analizarse con el Kit de prueba para el antígeno del criptococo. Entre estos sueros se encontraban las muestras de referencia (1000 UI/ml) de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (*Centers for Disease Control and Prevention*) de los EE.UU., que incluían muchos sueros positivos de tejido conjuntivo y factor reumatoide, junto con anticuerpos contra la rubéola y otros anticuerpos no específicos. Estos resultados demuestran que el Kit de prueba para el antígeno del criptococo ofrece una sensibilidad óptima sin el uso de un látex de control para verificar la especificidad.

Se llevó a cabo un estudio independiente en un laboratorio clínico asociado con un importante hospital. Se analizaron (595) muestras de suero y LCR con el Kit de prueba para el antígeno del criptococo y otro sistema de prueba de látex disponible en el mercado. Los resultados indicaron que la sensibilidad y especificidad del Kit de prueba para el antígeno del criptococo es del 100% y sus reacciones se consideraron más fáciles de interpretar.

		Kit de prueba para el antígeno del criptococo	
		+	–
Otra prueba de látex	+	68	2*
	–	0	525

***Nota:** dos muestras dieron resultado negativo con el Kit de prueba para el antígeno del criptococo y resultado positivo (titulación de 1:2) con la otra prueba de látex. Ambas muestras dieron resultado negativo mediante el cultivo.

Se llevaron a cabo estudios de reproducibilidad utilizando el Kit de prueba para el antígeno del criptococo y otra prueba de látex disponible en el mercado. La mayoría (96%) de las titulaciones obtenidas con ambas pruebas no variaban más de una dilución de tubo entre las dos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Patterson, T.F. and V.T. Andriole. 1989. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8:457-465.
2. Bloomfield, N., M.A. Gordon, and D.F. Elmendorff, Jr. 1963. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 114:64-67.
3. Kaufman, L. and S. Blumer. 1977. Proc. Int. Conf. Mycoses., Pan Am. Health Org. 356:176-182.
4. Asznowicz, R., H. Newton-John, and J. Kaldor. 1979. Med. J. Aust. 1:347-349.
5. Stockman, L. and G.D. Roberts. 1983. J. Clin. Microbiol. 17:945-947.
6. Gray, L.D. and G.D. Roberts. 1988. J. Clin. Microbiol. 26:2450-2451.
7. Hamilton, J.R., A. Nobel, D.W. Denning, and D.A. Stevens. 1991. J. Clin. Microbiol. 29:333-339.
8. Chosewood, L.C. and D.E. Wilson. 2007. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. U.S. Dept. of H.H.S., CDC and National Institutes of Health, Washington, D.C.
9. Murray P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller. 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
10. Kovacs, J.A., A.A. Kovacs, M. Polis, W.C. Wright, V.J. Gill, C.U Tuazon, E.P Gelmann, H.C. Lane, R. Longfield, G. Overturf, A.M. Macher, A.S. Fauci, J.E. Parrillo, J.E. Bennett, and H. Masur. 1985. Ann. Int. Med. 103:533-538.
11. Eng, R.H., E. Bishburg, S.M Smith, and R. Kapila. 1986. Am. J. Med. 81:19-23.
12. Chuck, S.L. and M.A. Sande. 1989. N. Engl. J. Med. 321:794-798.
13. Dimech, W.J. 1991. Aust. J. Med. Lab. Sci. 12:13-21.
14. Boom, W.H., D.J. Piper, K.L. Ruoff, and M.J. Ferraro. 1985. J. Clin. Microbiol.22:856-857.
15. Melcher, G.P., K.D. Reed, M.G. Rinaldi, J.W. Lee, P.A. Pizzo, and T.J. Walsh. 1991. J. Clin. Microbiol. 29:192-196.
16. Howell, D., D. Orkiszewski, and P. Gilligan. 1993. Abstract C-160. Abstracts of the 93rd Gen. Mtg. of the ASM. ASM, Washington, D.C.
17. Kiska, D.L., D.R. Orkiszewski, D. Howell, and P.H. Gilligan. 1994. J. Clin. Microbiol. 32:2309-2311.

PRESENTACIÓN

REF R30851501, Cryptococcus Antigen Test Kit..... de 50 pruebas

Símbolos

REF	Número de catálogo
IVD	Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*
LAB	Para uso en laboratorio
	Consultar las instrucciones de uso (IFU)
	Límite de temperatura (de almacenamiento)
LOT	Código de lote (número de lote)
	Fecha de caducidad
EC REP	Representante autorizado en Europa

CE

IFU 30851501, revisado el 2009-12-02 Impreso en los EE.UU.

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, EE.UU.
Información general: (800) 255-6730 Dirección en Internet: www.remel.com Correo electrónico: remel@remel.com
Teléfono local/Internacional: (913) 888-0939 Fax internacional: (913) 895-4128